

苹果果实细胞超薄切片的制备及超微结构透射电镜观察

Preparation of Ultrathin Section of Apple Fruit and Observation of Cellular Ultrastructure by TEM

张凌云*

森林培育与保护教育部重点实验室，北京林业大学，北京，中国

*通讯作者: lyzhang@bjfu.edu.cn

引用格式: 张凌云. (2018). 苹果果实细胞超薄切片的制备及超微结构透射电镜观察. *Bio-101* e1010241.

Doi: 10.21769/BioProtoc.1010241.

How to cite: Zhang, L. Y. (2018). Preparation of ultrathin section of apple fruit and Observation of Cellular Ultrastructure by TEM. *Bio-101* e1010241. Doi: 10.21769/BioProtoc. 1010241. (in Chinese)

摘要: 通过观察超薄切片，观察细胞内结构及变化情况。本实验主要是用于观察筛管伴胞复合体及胞间连丝情况。

关键词: 细胞，超微结构，果实

材料与试剂

注: 除特别说明，所用试剂均为购自 *sigma-Aldrich* 公司。

1. 刀片（普通双面刀片，用于切取果肉组织）
2. 包埋盒
3. Formvar 膜
4. 苹果
5. 多聚甲醛
6. 戊二醛
7. PBS (磷酸缓冲液 pH 7.2)
8. 钨酸
9. 乙醇
10. 丙酮

11. Spur
12. 1% (w/v) 钨酸 (蒸馏水配制)
13. 前固定液 (见溶液配方)

仪器设备

1. 4 °C 冰箱
2. 70 °C 恒温箱
3. LKB-8800 型切片机
4. 镍网
5. 透射电镜

实验步骤

注：除特别说明外，所有操作步骤均可在室温下进行。

1. 前固定：将苹果果肉组织切分成 2-3 mm³ 的小块，放入到前固定液 (见溶液配方) 中，抽气并在 4 °C 下固定组织块 4 h。
2. 冲洗：用 4 °C 保存的 0.1 M PBS 洗三次，每次 30 min。
3. 后固定：1%钨酸 4 °C 下固定 1.5-2 h。
4. 冲洗：用 0.1 M PBS (pH 7.2) 4 °C 洗三次，每次 30 min。
5. 脱水
30%乙醇 (20min)→50%乙醇 (20min)→70%乙醇 (过夜)→80%乙醇 (20min)→90%乙醇 (60min)→100%乙醇 (60min)→100%乙醇 (60min)→100%乙醇 (20min)→丙酮 (20min)→丙酮 (20min) →丙酮 (20 min)
6. 置换
丙酮: Spur 2: 1 1 h
丙酮: Spur 1: 1 1 h
丙酮: Spur 1: 2 1 h
纯 Spur 1 h
7. 浸透：纯 Spur 浸透 24 h 以上。

8. 包埋: Spur 包埋。
注: 不含水分及气泡。
9. 70 °C 下聚合 8 h 以上。
10. 切片: 用 LKB-8800 型切片机制备超薄切片, 切片捞在 100 目以 0.3% Formvar 膜覆盖的镍网上
11. 用透射电镜进行细胞超微结构观察。

溶液配方

注: 本实验方案中所需的溶液除特殊说明外, 均用蒸馏水配制。

1. 前固定液
4% (v/v) 多聚甲醛
2.5% (v/v) 戊二醛
0.1 M PBS, pH 7.2 配制
2. 1% (w/v) 钨酸

致谢

感谢国家自然科学基金 (30700646) 资助。本篇实验方案改编自先前发表的文章 Zhang *et al.* (2004)。

参考文献

1. Zhang, L. Y., Peng, Y. B., Pelleschi-Travier, S., Fan, Y., Lu, Y. F., Lu, Y. M., Gao, X. P., Shen, Y. Y., Delrot, S. and Zhang, D. P. (2004). [Evidence for apoplastic phloem unloading in developing apple fruit](#). *Plant Physiol* 135(1): 574-586.